

不同品种猪及生理阶段葡萄糖转运载体和胰岛素受体表达的发育性变化

刘文佐 左建军 代发文 叶 慧 曹庆云 周响艳 邹仕庚 黄志毅 职爱民 冯定远*

(华南农业大学动物科学学院, 广州 510642)

摘 要: 本试验旨在研究不同品种猪及生理阶段葡萄糖转运载体 (*GLUT*) 1、*GLUT* 4 和胰岛素受体 (*IR*) mRNA 表达的发育规律。试验以 1、7、26、30、60、90 和 150 日龄蓝塘和长白两品种猪背最长肌、半膜肌和半腱肌组织样品 cDNA 为模板, 采用实时荧光定量 RT-PCR 的方法, 检测猪 *GLUT* 1 和 *GLUT* 4 mRNA 在不同骨骼肌中的表达模式。结果显示: 1) 1~150 日龄蓝塘和长白猪背最长肌、半膜肌和半腱肌 *GLUT* 1 mRNA 表达存在相似的发育变化规律, 在 1 日龄时相对表达丰度最高。2) 1~150 日龄蓝塘和长白猪半膜肌和半腱肌 *GLUT* 4 mRNA 相对表达丰度随日龄呈波形式变化, 变化速度和程度存在品种差异。1 日龄时蓝塘猪背最长肌 *GLUT* 4 mRNA 相对表达丰度低于同日龄长白猪 ($P>0.05$), 而在 60 日龄时高于长白猪 ($P>0.05$)。3) 蓝塘和长白猪背最长肌、半膜肌和半腱肌 *IR* mRNA 相对表达丰度在 1 和 30 日龄时表现出较高水平, 而在 7、60、90 和 150 日龄时无显著差异 ($P>0.05$); 同日龄蓝塘和长白猪之间 *IR* mRNA 相对表达丰度无显著性差异 ($P>0.05$)。结果表明: 猪骨骼肌 *GLUT* 1 mRNA 的表达在不同生理阶段存在差异, 猪骨骼肌 *GLUT* 4 mRNA 的表达在不同品种和生理阶段存在显著差异, 且其与 *IR* mRNA 的表达相关性较弱, 无明显规律。

关键词: 蓝塘猪; 长白猪; 葡萄糖转运载体 1; 葡萄糖转运载体 4; 胰岛素受体; 发育规律
中图分类号: S828 **文献标识码:** A **文章编号:**

葡萄糖转运载体 (glucose transporter, GLUT) 是介导葡萄糖分子进入细胞的通道, 其表达水平和蛋白质活性对维持机体葡萄糖稳态和提供营养底物具有重要的意义。目前, 哺乳动物 GLUT 可以分为 3 类^[1], 其中第 1 类包括 4 种, 分别为 GLUT1、GLUT2、GLUT3 和 GLUT4, 分布组织广泛, 对调节机体葡萄糖稳态具有重要的作用。GLUT1 和 GLUT4 是骨骼肌最为重要的两类 GLUT, 其中 GLUT1 负责转运供应机体基础代谢所需的葡萄糖, 而 GLUT4 受胰岛素敏感性调节。

Hall 等^[2]在大西洋黑线鳕中研究发现, *GLUT* 4 mRNA 的表达在其受精卵中就可检测到, 而且从孵化期到幼年时期一直有较高丰度的表达。有研究报道, 发现断奶后和成年大鼠空肠 GLUT1 蛋白丰度显著高于哺乳期^[3]。Barfull 等^[4]在研究中还比较了 2 日龄和 5 周龄的鸡肠道中钠-葡萄糖共转运载体 (*SGLT*) 1 的 mRNA 的表达, 结果显示 mRNA 的表达存在显著

收稿日期: 2016 - 07 - 28

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2012CB124701); 广东省科技计划项目 (2016A020210104); 广州市科技计划项目 (201510010258)

作者简介: 刘文佐 (1991 -), 男, 湖北仙桃人, 硕士研究生, 从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: lwz698631@sina.com

*通信作者: 冯定远, 教授, 博士生导师, E-mail: fengdy@scau.edu.cn

差异。王修启等^[5]研究爱拔益加（AA）肉鸡和黄羽肉鸡十二指肠中 *GLUT2* mRNA 的表达，发现其发育模式并不相同，在 2~30 日龄 2 种肉鸡中都呈现不断升高的趋势，30 日龄以后两者的发育模式完全不同。上述研究说明了不同年龄、不同品种的动物，其 *GLUT* 的表达有所差异。此外，目前有关 *GLUT* 的研究主要体现人^[6-7]、鼠^[3,8]和家禽^[11-13]上，且对肠道中 *GLUT* 的表达研究较多，而其在不同品种猪及生理阶段骨骼肌中的分布表达情况还未见报道。因此，本试验选用地方传统猪种蓝塘猪和外来品种长白猪为试验对象，研究不同品种猪及生理阶段骨骼肌 *GLUT1* 和 *GLUT4* 以及胰岛素受体（insulin receptor, *IR*）mRNA 表达的发育性变化，旨在探讨猪骨骼肌内葡萄糖代谢的分子机制，为进一步研究骨骼肌生长发育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物及样品采集

选取 1 日龄蓝塘仔猪 50 头和长白仔猪 70 头，随机分到 5 个重复，蓝塘每个重复共 10 头，长白每个重复共 14 头。饲养至 150 日龄，饲养试验在广东省东莞市板岭原种猪场进行，按照试验猪场的饲养管理规程及免疫程序进行饲养。于 1、7、30、60、90 和 150 日龄时分别从蓝塘和长白猪组每个重复中选取接近平均体重的阉公猪进行放血屠宰试验，宰前不禁食。按解剖学位置分别从背最长肌、半膜肌和半腱肌采取组织样放入 1.5 mL 离心管中，液氮速冻后，转入-80℃冷冻保存备用。

1.2 实时荧光定量检测组织中 *GLUT1* 和 *GLUT4* 的表达

将分离的不同部位的骨骼肌参照 Trizol(北京赛百盛基因技术有限公司)的说明书步骤，分别从 3 块不同的肌肉部位提取总 RNA 后进行反转录，而后使用 TaKaRa 公司提供的 PCR 试剂盒进行实时荧光半定量 PCR 检测，参照 NCBI 公布的猪 *GLUT1*（Genbank 登录号：X17058）、*GLUT4*（Genbank 登录号：EU590115）以及 *IR*（Genbank 登录号:AF102858）的基因序列，用 Prime 5.0 软件设计引物（表 1），内参基因为 β -肌动蛋白（ β -actin），四者的反应条件均为：95℃ 5 min，95℃ 20 s、58℃ 20 s、72℃ 20 s 共 40 个循环，72℃ 4 min。

表 1 试验引物

| Table 1 Primers for the experiment | |
|------------------------------------|------------------------------|
| 基因 Genes | 引物序列 Primer sequence (5'—3') |
| 葡萄糖转运载体1 <i>GLUT1</i> | F: GATGAAGGAGGAGTGCCG |
| | R: CAGCACCACGGCGATGAGGAT |
| 葡萄糖转运载体4 <i>GLUT4</i> | F: CTCCTGCTTGGCATCATCT |
| | R: TGAGGAACCGTCCAAGAATG |
| 胰岛素受体 <i>IR</i> | F: CATTGGACCCCTCATCTTTG |
| | R: GGAAATACATCGCTGGCACT |
| β -肌动蛋白 β -actin | F: CATCACCATCGGCAACG |

R: CCGTGTTGGCGTAGAGGT

1.3 数据统计与分析

试验数据以平均值 \pm 标准误表示。采用 SPSS 17.0 统计软件分析数据, 运用单因子方差分析模型 (one-way ANOVA) 进行方差分析, 运用 LSD 法进行不同日龄之间差异显著性检验, 运用独立样品 *T* 检验法进行同日龄蓝塘和长白猪之间差异显著性分析。

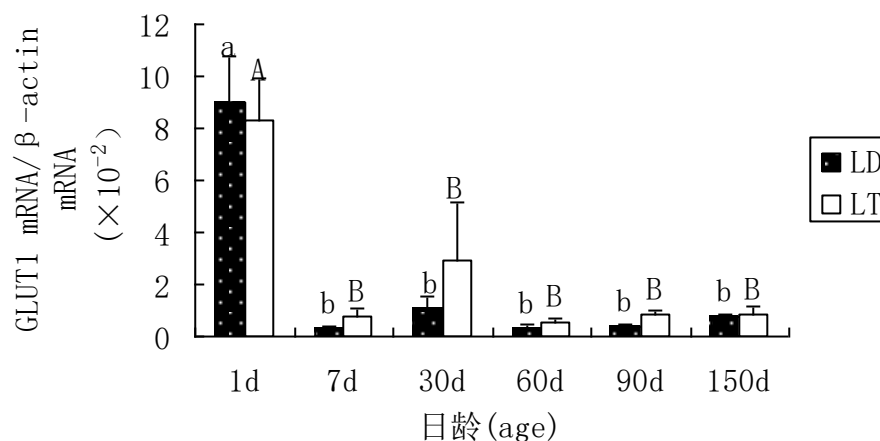
2 结果与分析

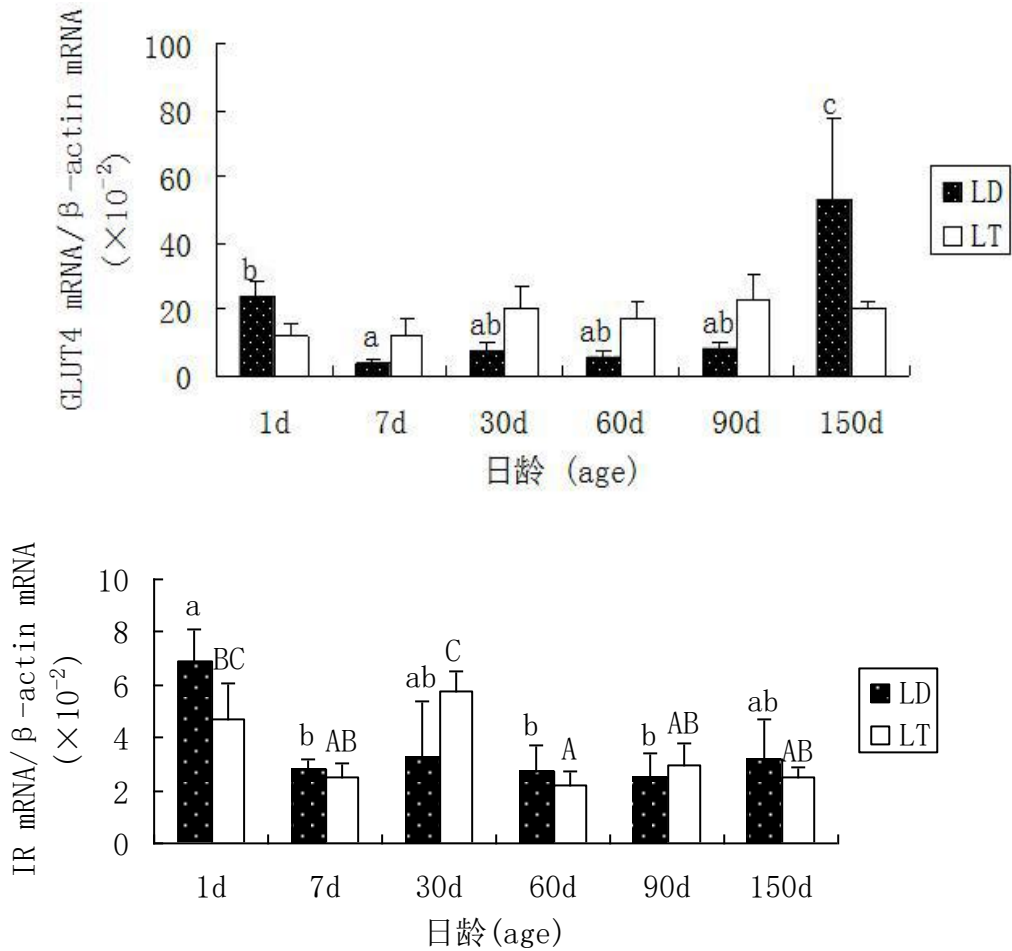
2.1 背最长肌 *GLUT1*、*GLUT4* 和 *IR* mRNA 表达的发育性变化

1~150日龄蓝塘和长白猪背最长肌*GLUT1*、*GLUT4*和*IR* mRNA相对表达丰度发育变化比较见图1-A、1-B和1-C所示。由图1-A可知, 蓝塘和长白猪背最长肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度具有相似的发育变化规律。2种猪初生时(1日龄)背最长肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度均显著高于其他日龄($P<0.05$), 在7、30、60、90和150日龄时均无显著性变化($P>0.05$)。相同日龄时2品种猪之间背最长肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度也无显著差异($P>0.05$)。

由图1-B可知, 长白猪背最长肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度出生时水平较高, 随后逐渐降低; 7日龄*GLUT4* mRNA相对表达丰度显著低于1日龄($P<0.05$), 而7、30、60和90日龄与1日龄相比无显著差异($P>0.05$), 150日龄达到最高, 显著高于其他日龄($P<0.05$)。蓝塘猪背最长肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度随日龄变化无明显变化趋势, 各日龄之间差异不显著($P>0.05$)。1日龄时长白猪背最长肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度高于同日龄蓝塘猪($P>0.05$), 而后除150日龄外, 蓝塘猪背最长肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度高于长白猪($P>0.05$), 其中60日龄时蓝塘猪比长白猪高66.76%。

由图1-C可知, 蓝塘和长白猪背最长肌*IR* mRNA相对表达丰度具有相似的发育变化规律。在1和30日龄时蓝塘和长白猪背最长肌*IR* mRNA相对表达丰度均处于较高水平。长白猪1日龄背最长肌*IR* mRNA相对表达丰度显著高于除150日龄以外的其余日龄($P<0.05$), 而7、30、60、90和150日龄间无显著差异($P>0.05$)。1和30日龄蓝塘猪背最长肌*IR* mRNA相对表达丰度显著高于60日龄($P<0.05$), 其余日龄间无显著差异($P>0.05$)。





LD 代表长白猪, LT 代表蓝塘猪。柱形标注不同字母者(小写字母, 长白猪; 大写字母, 蓝塘猪)表示同一品种不同日龄之间差异显著 ($P<0.05$)。*表示同日龄蓝塘和长白猪之间差异显著 ($P<0.05$)。下图同。

LD represents Landrace pig, LT represents Lantang pig. Columns with different letters (small letters for Landrace pig and capital letters for Lantang pig) indicate significant difference between days of age in the same breed ($P<0.05$). * means significant difference between Lantang and Landrace pigs in the same days of age ($P<0.05$). The same as below.

图 1 不同日龄蓝塘和长白猪背最长肌 *GLUT1*、*GLUT4* 和 *IR* mRNA 相对表达丰度

Fig.1 The mRNA relative expression abundance of *GLUT1*, *GLUT4* and *IR* in longissimus dorsi muscle of Lantang and Landrace pigs at different days of age

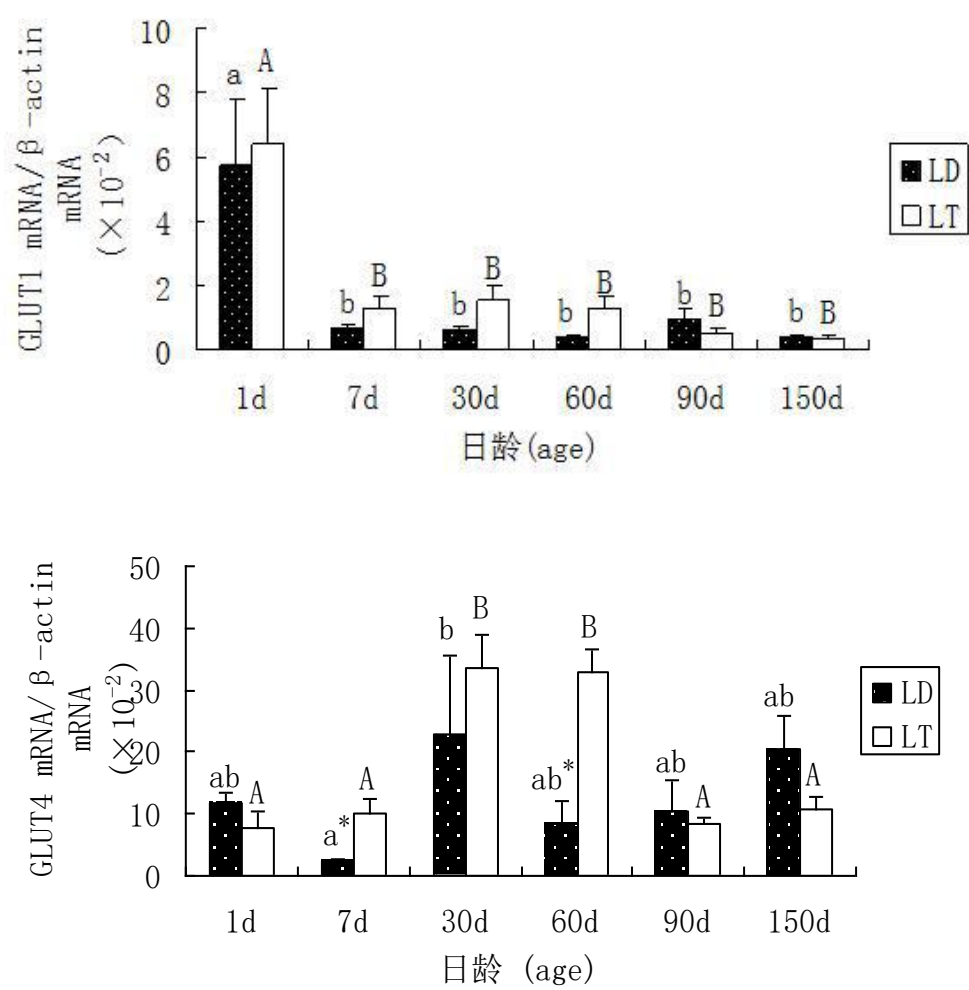
2.2 半膜肌 *GLUT1*、*GLUT4* 和 *IR* mRNA 表达的发育性变化

1~150日龄蓝塘和长白猪半膜肌*GLUT1*、*GLUT4*和*IR* mRNA相对表达丰度发育变化比较见图2所示。由图2 - A可知, 1~150日龄蓝塘和长白猪半膜肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度存在相似的发育变化规律。1日龄*GLUT1* mRNA相对表达丰度显著高于其他日龄 ($P<0.05$), 而在7、30、60、90和150日龄时无显著差异 ($P>0.05$)。同日龄蓝塘和长白猪半膜肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度无显著差异 ($P>0.05$)。

由图2 - B可知, 1~150日龄蓝塘和长白猪半膜肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度随日龄呈波形式变化, 长白猪出生后先降低再升高, 而蓝塘猪先升高后降低。30日龄时蓝塘和长白猪

半膜肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度均处于最高水平。30日龄长白猪半膜肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度显著高于7日龄 ($P<0.05$)，而蓝塘猪在30和60日龄时半膜肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度显著高于其他日龄 ($P<0.05$)。在7和60日龄时，蓝塘猪半膜肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度分别比同日龄长白猪高76.98%和74.70%，均达到显著水平 ($P<0.05$)。

由图2 - C可知，1~150日龄蓝塘猪和长白猪半膜肌*IR* mRNA相对表达丰度均在1和30日龄时表现出较高水平，而在7、60、90和150日龄时无显著差异 ($P>0.05$)。从1~150日龄各日龄阶段同日龄蓝塘猪和长白猪半膜肌*IR* mRNA相对表达丰度均无显著差异 ($P>0.05$)。



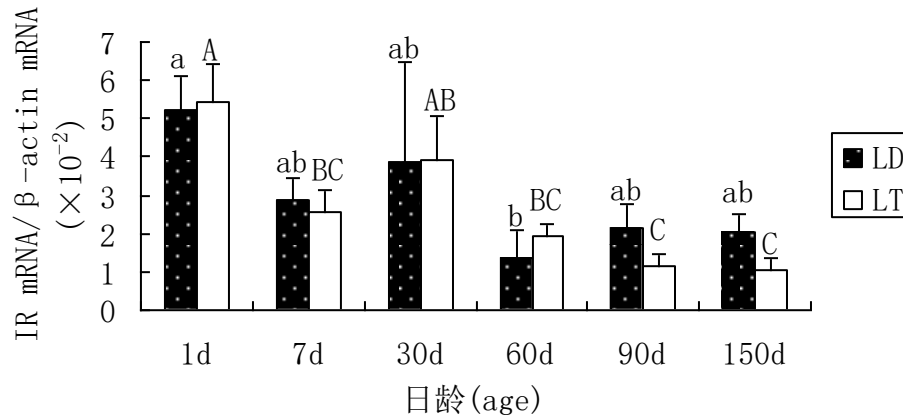


图2 不同日龄蓝塘和长白猪半膜肌 *GLUT1*、*GLUT4* 和 *IR* mRNA 相对表达丰度

Fig.2 The mRNA relative expression abundance of *GLUT1*, *GLUT4* and *IR* in semimembranosus of Lantang and Landrace pigs at different days of age

2.3 半腱肌 *GLUT1*、*GLUT4* 和 *IR* mRNA 表达的发育性变化

1~150日龄蓝塘和长白猪半腱肌*GLUT1*、*GLUT4*和*IR* mRNA相对表达丰度发育变化比较见图3所示。由图3 - A可知, 1~150日龄蓝塘和长白猪半腱肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度均在1日龄时显著高于其他日龄 ($P<0.05$), 而在7、30、60、90和150日龄时均无显著性变化 ($P>0.05$)。150日龄时蓝塘猪半腱肌*GLUT1* mRNA相对表达丰度比同日龄长白猪高58.21% ($P>0.05$)。

由图3 - B可知, 1~150日龄蓝塘和长白猪半腱肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度随日龄呈波形式变化, 长白猪出生后先降低再升高, 而蓝塘猪先升高后降低。30日龄时蓝塘和长白猪半腱肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度均处于最高水平。30日龄长白猪半腱肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度显著高于7日龄 ($P<0.05$), 而蓝塘猪在30日龄时显著高于1日龄 ($P<0.05$), 与其他日龄相比无显著差异 ($P>0.05$)。1日龄时长白猪半腱肌*GLUT4* mRNA相对表达丰度显著高于同日龄蓝塘猪 ($P<0.05$), 而在其他日龄时蓝塘猪仅有高于同日龄长白猪的趋势 ($P>0.05$)。

由图3 - C可知, 1~150日龄蓝塘猪和长白猪半腱肌*IR* mRNA相对表达丰度均在1和30日龄时表现出较高水平, 而在7、60、90和150日龄时无显著差异 ($P>0.05$)。从1~150日龄, 各日龄阶段同日龄蓝塘猪和长白猪半膜肌*IR* mRNA相对表达丰度均无显著差异 ($P>0.05$)。

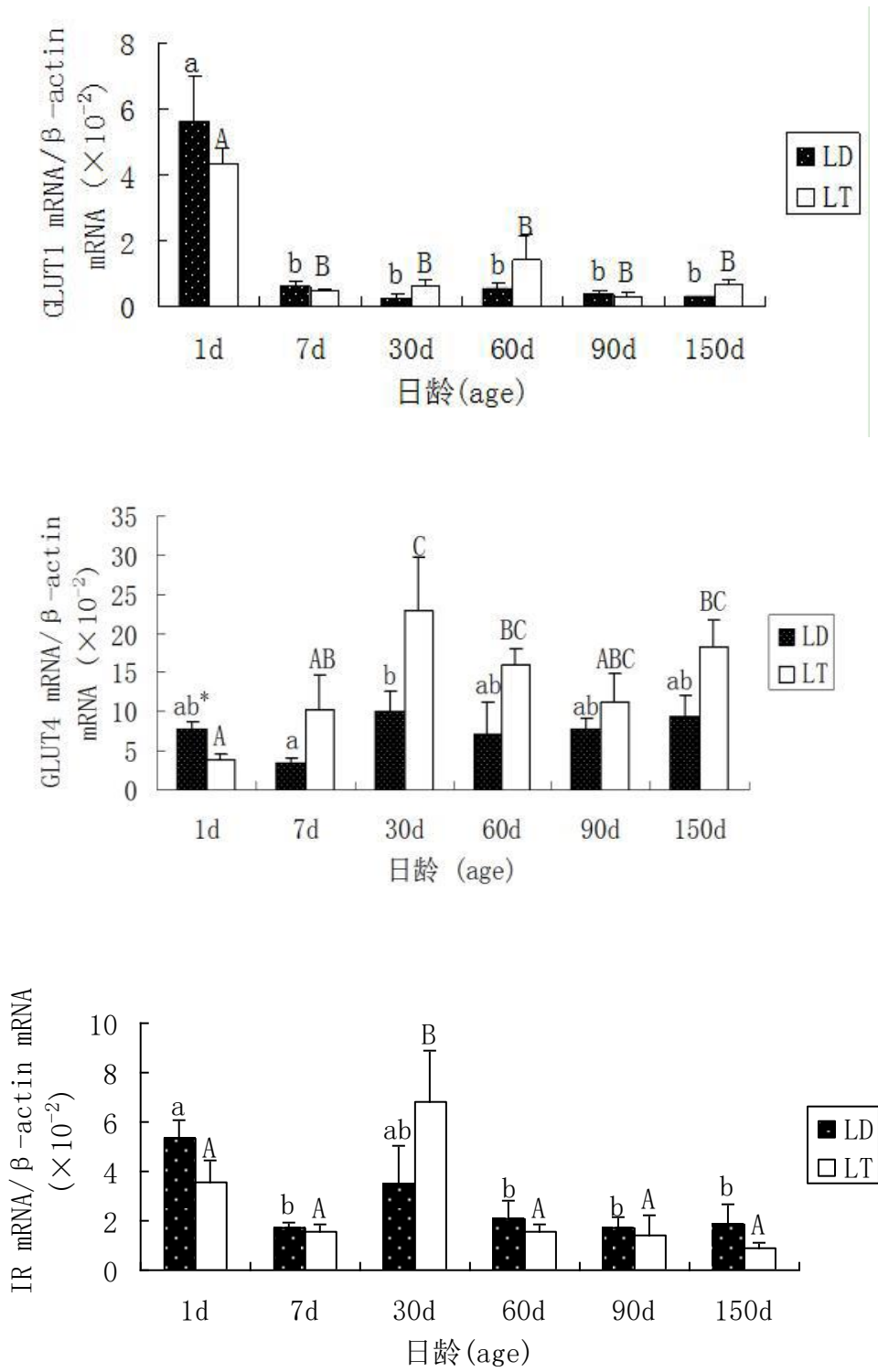


图3 不同日龄蓝塘和长白猪半腱肌 *GLUT1*、*GLUT4* 和 *IR* mRNA 相对表达丰度
Fig.3 The mRNA relative expression abundance of *GLUT1*, *GLUT4* and *IR* in semitendinosus of Lantang and Landrace pigs at different days of age

3 讨论

3.1 日龄对骨骼肌 GLUT 的影响

骨骼肌 *GLUT* 表达随机体发育而产生变化以满足机体生长代谢的生理需要。Humphrey 等

[14]在禽类的研究上发现生长鸡 $GLUT1$ 在孵化后第1天除心脏外在其他组织均无表达,而心脏组织也是在孵化后第3天表达水平急剧下降直到第7天才恢复到第1天水平。本研究发现猪在出生第1天骨骼肌 $GLUT1$ 具有较高的mRNA表达丰度,随后呈下降趋势,并维持低水平至150日龄。这可能是由于2种动物营养生理差异的原因,禽类孵化后第1天仍由卵黄囊提供机体能量直到其脂肪耗尽^[15],而猪出生时通过采食母乳满足营养需要。Dos Santos等^[16]研究了不同发育阶段鼠的骨骼肌 $GLUT4$ mRNA的表达情况,结果表明,鼠比目鱼肌中 $GLUT4$ mRNA的表达与日龄呈负相关,这与发育过程中机体葡萄糖的摄取及代谢有关。本研究发现蓝塘猪和长白猪半膜肌和半腱肌 $GLUT4$ mRNA相对表达丰度随日龄呈波形变化,30日龄时显著高于7日龄,这可能是由于从哺乳期高能量、高脂肪液体乳过渡到断奶期全价饲料原料饲粮,从而影响机体骨骼肌糖代谢所致。也有研究显示饲粮因素会影响 $GLUT$ 在肌肉中的表达,如Banda等^[17]研究发现,持续2周高果糖饲粮使骨骼肌中 $GLUT4$ mRNA表达水平下降27%。

此外,本试验结果发现蓝塘猪和长白猪背最长肌、半膜肌和半腱肌中 $GLUT1$ 和 $GLUT4$ mRNA表达发育模式存在极大的差异, $GLUT4$ 表达丰度明显高于 $GLUT1$,且在出生后整个试验期内都表现出较高的表达水平。这表明 $GLUT4$ 是骨骼肌发育过程中主要的 $GLUT$ 亚型。与此相似,在人肌纤维发育过程中 $GLUT1$ 和 $GLUT4$ 表达发育模式存在明显差异,在出生后 $GLUT1$ 显著下降,并在出生后第1年降至检不出水平,而 $GLUT4$ 在全期都有较高的表达水平^[18]。然而,Sweazea等^[20]在禽类的研究表明 $GLUT1$ 表达比 $GLUT4$ 重要。这可能与两类转运载体调节机制和动物机体对胰岛素敏感性差异有关。

3.2 品种对骨骼肌 GLUT 的影响

蓝塘猪是中国地方品种猪,具有典型的传统猪种特征,与外来猪相比生长速度较慢、胴体瘦肉率较低、肌内脂肪含量较高。葡萄糖是哺乳动物机体主要的能量来源,对猪而言主要通过肠道 $GLUT$ 吸收转运。Duehlmeier等^[20]研究比较了 $GLUT1$ 和 $GLUT4$ 在单胃杂食动物(鼠、猪)和复胃草食动物(牛、山羊)骨骼肌中的分布方式,试验结果发现,两类动物 $GLUT1$ 在氧化型和酵解型肌肉中的表达方式存在差异。这揭示品种间遗传差异是影响 $GLUT1$ 在肌肉中表达方式的主要原因之一。本试验发现同日龄蓝塘和长白猪骨骼肌 $GLUT1$ mRNA表达丰度发育变化存在相似的趋势,这进一步佐证了 $GLUT1$ 在肌肉中的表达受品种间遗传差异的影响。本试验结果还发现,与长白猪相比,蓝塘猪背最长肌 $GLUT4$ 的表达不受发育变化的影响,这也是由于品种的遗传差异所致。

此外,本试验发现同日龄蓝塘猪和长白猪骨骼肌 $GLUT1$ 和 $GLUT4$ mRNA在不同生理阶段存在不同程度的差异。本试验中150日龄时蓝塘猪半肌腱 $GLUT1$ 和 $GLUT4$ 表达丰度高于同日龄长白猪,且有文献报道肌内脂肪沉积主要在生长发育后期^[21],而蓝塘猪相比外来猪,其肌内脂肪含量较高,因此,我们推断葡萄糖可能是肌内脂肪沉积的主要能量来源和底物。

3.3 IR 与 GLUT 的发育性表达

动物细胞葡萄糖跨膜吸收在调节机体葡萄糖稳态方面起着十分重要的作用,而胰岛素调

节GLUT活性对机体葡萄糖的代谢利用起着重要的生理作用。在基础代谢状态下，位于细胞膜上的GLUT4只有5%左右。然而，在胰岛素的快速刺激下（2~3 min），GLUT4外分泌增加，大约50%GLUT4重新移至细胞膜表面^[22]。因此GLUT4易位是骨骼肌糖代谢的关键步骤。

基础状态下，骨骼肌的GLUT4主要于细胞内以囊泡形式存在，只有少数存在于细胞膜上。当组织受到胰岛素或运动的刺激时，胰岛素与其特定的IR结合，通过一系列的信号传导通路，触发富含GLUT4的小泡以胞吐的形式向细胞表面转位，促进葡萄糖的摄取，从而增加葡萄糖的转运，维持机体内葡萄糖的稳态^[23-26]。本试验发现IR mRNA表达丰度主要在出生1和30日龄时出现高峰期，这可能与其生理需求有关，出生和断奶应激仔猪表现出高水平的胰岛素敏感性，进而使IR高度表达，这样有助于加快骨骼肌GLUT4跨膜转运，从而促进葡萄糖转运进入肌细胞，满足骨骼肌的能量代谢需要，进而维持血糖平衡。

正常的GLUT4表达依赖于正常的胰岛素水平和胰岛素敏感性。体外试验表明，胰岛素孵育骨骼肌，GLUT4 mRNA表达增加25%^[27]。胰岛素敏感性缺乏的动物出现GLUT4转录水平的抑制，其原因可能在于调控区域的活性下降。Seraphim等^[28]研究发现12月龄肥胖鼠发生胰岛素耐受现象，其脂肪组织GLUT4 mRNA和蛋白均显著低于2月龄正常小鼠，而肌肉中GLUT4 mRNA显著增加，GLUT4蛋白水平没有发生改变，这可能与GLUT4 mRNA poly(A)尾巴减少约80个A碱基有关。本试验中蓝塘猪和长白猪3个部位骨骼肌GLUT4 mRNA表达丰度高峰期均未表现出与IR一致，这揭示了GLUT4表达丰度的高低并不能完全反映出胰岛素敏感性。

4 结 论

① 不同品种猪骨骼肌GLUT1 mRNA的表达存在相似的发育变化规律，GLUT4 mRNA的表达存在显著差异。

② 不同生理阶段猪骨骼肌GLUT1、GLUT4以及IR mRNA的表达均存在差异。刚出生时猪骨骼肌GLUT1 mRNA的表达显著高于其他生理阶段，而IR mRNA的表达在出生和断奶时相比其他生理阶段更高。

③ 猪骨骼肌GLUT4 mRNA与其IR mRNA的表达不具有完全的一致性，仅在仔猪断奶时两者的表达均处于较高水平，IR高度表达使GLUT4表达升高可能与胰岛素信号传导通路有关。

参考文献：

- [1] JOOST H G,BELL G I,BEST J D,et al.Nomenclature of the GLUT/SLC2A family of sugar/polyol transport facilitators[J].American Journal of Physiology:Endocrinology and Metabolism,2002,282(4):E974-E976.
- [2] HALL J R,SHORT C E, DRIEDZIC W R.Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2 and GPDH:Developmental stage expression,tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose[J].Journal of Experimental Biology,2006,209:4490-4502.

- [3] KHAN J M,WINGERTZAHN M A,TEICHBERG S,et al.Development of the intestinal SGLT1 transporter in rats[J].Molecular Genetics and Metabolism,2000,69(3):233–239.
- [4] BARFULL A,GARRIGA C,MITJANS M,et al.Ontogenetic expression and regulation of Na⁺-D-glucose cotransporter in jejunum of domestic chicken[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,2002,282(3):G559–G564.
- [5] 王修启,谭会泽,束刚,等.不同基因型肉鸡十二指肠 *SGLT1* 和 *GLUT2* mRNA 表达的发育性变化[J].农业生物技术学报,2006,14(3):334–340.
- [6] TURK E,KERNER C J,LOSTAO M P,et al.Membrane topology of the human Na⁺/glucose cotransporter SGLT1[J].Journal of Biological Chemistry,1996,271(4):1925–1934.
- [7] DYER J,WOOD I S,PALEJWALA A,et al.Expression of monosaccharide transporters in intestine of diabetic humans[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,2002,282(2):G241–G248.
- [8] WRIGHT E M.The intestinal Na⁺/glucose cotransporter[J].Annual Review of Physiology,1993,55(1):575–589.
- [9] HODIN R A,CHAMBERLAIN S M,MENG S.Pattern of rat intestinal brush-border enzyme gene expression changes with epithelial growth state[J].American Journal of Physiology,1995,269(2):C385–C391.
- [10] HODIN R A,GRAHAM J R,MENG S,et al.Temporal pattern of rat small intestinal gene expression with refeeding[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,1994,266(1):G83–G89.
- [11] GARRIGA C,ROVIRA N,MORETÓ M,et al.Expression of Na⁺-D-glucose cotransporter in brush-border membrane of the chicken intestine[J].American Journal of Physiology Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,1999,276(2):R627–R631.
- [12] 王修启,张兆敏,张磊,等.日粮添加木聚糖酶对肉鸡小肠葡萄糖吸收及其转运载体基因表达影响[J].农业生物技术学报,2005,13(4):497–502.
- [13] 王修启,谭会泽,束刚,等.鸡肠道 *SGLT1* 和 *GLUT2* mRNA 表达的组织特异性研究[J].畜牧兽医学报,2006,37(1):12–17.
- [14] HUMPHREY B D,STEPHENSON C B,CALVERT C C,et al.Glucose and cationic amino acid transporter expression in growing chickens (*Gallus gallus domesticus*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2004,138(4):515–525.
- [15] SKLAN D.Fat and carbohydrate use in posthatch chicks[J].Poultry Science,2003,82(1):117–122.
- [16] DOS SANTOS J M,BENITE-RIBEIRO S A,QUEIROZ G,et al.The effect of age on glucose uptake and *GLUT1* and *GLUT4* expression in rat skeletal muscle[J].Cell Biochemistry and Function,2012,30(3):191–197.
- [17] BANDA M,BOMMINENI A,THOMAS R A,et al.Evaluation and validation of housekeeping genes in response to ionizing radiation and chemical exposure for normalizing RNA expression in real-time PCR[J].Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental

Mutagenesis,2008,649(1/2):126–134.

- [18] GASTER M,HANDBERG A,BECK-NIELSEN H,et al.Glucose transporter expression in human skeletal muscle fibers[J].American Journal of Physiology:Endocrinology and Metabolism,2000,279(3):E529–E538.
- [29] SWEAZEA K L,BRAUN E J.Glucose transporter expression in English sparrows (*Passer domesticus*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part B:Biochemistry and Molecular Biology,2006,144(3):263–270.
- [20] DUEHLMEIER R,SAMMET K,WIDDEL A,et al.Distribution patterns of the glucose transporters GLUT4 and GLUT1 in skeletal muscles of rats (*Rattus norvegicus*),pigs (*Sus scrofa*),cows (*Bos taurus*),adult goats,goat kids (*Capra hircus*),and camels (*Camelus dromedarius*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2007,146(2):274–282.
- [21] GARDAN D,GONDRET F,LOUVEAU I.Lipid metabolism and secretory function of porcine intramuscular adipocytes compared with subcutaneous and perirenal adipocytes[J].American Journal of Physiology:Endocrinology and Metabolism,2006,291(2):E372–E380.
- [22] HOLMAN G D,SANDOVAL I V.Moving the insulin-regulated glucose transporter GLUT4 into and out of storage[J].Trends in Cell Biology,2001,11(4):173–179.
- [23] HE J,THAMOTHARAN M,DEVASKAR S U.Insulin-induced translocation of facilitative glucose transporters in fetal/neonatal rat skeletal muscle[J].American Journal of Physiology:Endocrinology and Metabolism,2003,284(1):R1138–R1146.
- [24] HOU J C,PESSIN J E.Ins (endocytosis) and outs (exocytosis) of GLUT4 trafficking[J].Current Opinion in Cell Biology,2007,19(4):466–473.
- [25] FILHO H C M,MCKEEVER K H,GORDON M E,et al.Novel findings regarding *GLUT-4* expression in adipose tissue and muscle in horses-a preliminary report[J].The Veterinary Journal,2007,174(3):565–569.
- [26] OTANI K,HAN D H,FORD E L,et al.Calpain system regulates muscle mass and glucose transporter GLUT4 turnover[J].Journal of Biological Chemistry,2004,279(20):20915–20920.
- [27] SILVA J L T,GIANNOCCO G,FURUYA D T,et al.NF- κ B,MEF2A,MEF2D and HIF1- α involvement on insulin- and contraction-induced regulation of *GLUT4* gene expression in soleus muscle[J].Molecular and Cellular Endocrinology,2005,240(1/2):82–93.
- [28] SERAPHIM P M,NUNES M T,GIANNOCCO G,et al.Age related obesity-induced shortening of *GLUT4* mRNA poly(A) tail length in rat gastrocnemius skeletal muscle[J].Molecular and Cellular Endocrinology,2007,276(1/2):80–87.

Ontogenetic Regulation of Glucose Transporter and Insulin Receptor mRNA Expression in
Different Kinds of Pigs and Physiological Stages

LIU Wenzuo ZUO Jianjun DAI Fawei YE Hui CAO Qingyun ZHOU Xiangyan ZOU

Shigeng HUANG Zhiyi ZHI Aimin FENG Dingyuan*

(College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This experiment was conducted to determine the ontogenetic regulation of glucose transporter (*GLUT*) 1, *GLUT*4 and insulin receptor (*IR*) mRNA expression in different kinds of pigs and physiological stages. Lantang (LT) and Landrace (LD) pigs at the age of 1, 7, 30, 60, 90 and 150 days were selected to determine the expression patterns of *GLUT*1 and *GLUT*4 at different skeletal muscle tissues including longissimus dorsi muscles (LM), semimembranosus muscles (SM) and semitendinosus muscles (SD) by the method of real-time RT-PCR for cDNA templates. The results showed as follows: 1) LT and LD pigs exhibited similar development of mRNA expressions of *GLUT*1 in the LM, SM and SD from 1 to 150 days of age with the highest level at the age of 1 day. 2) LT and LD pigs exhibited waveform variations of mRNA relative expression abundance of *GLUT*4 from 1 to 150 days of age with breed differences in the speed and extend of variations. At the age of 1 day, the mRNA relative expression abundance of *GLUT*4 in the LM of LT pig was lower than that of LD pig with the same age, while was higher than that of LD pig with the same age of 60 days. 3) LT and LD pigs exhibited higher level of the mRNA relative expression abundance of *IR* in the LM, SM and SD at the age of 1 and 30 days, while there were not significant difference among 7, 60, 90 and 150 days of age ($P>0.05$). There was no significant difference in mRNA relative expression abundance of *IR* between LT and LD pigs with the same ages ($P>0.05$). The results suggest that *GLUT*1 mRNA expression in skeletal muscles of pigs can be regulated by physiological stages, while *GLUT*4 mRNA expression is not only differentially regulated by breeds but also differentially distributed in physiological stages, and the expression level of *GLUT*4 is weakly related to the *IR* mRNA expression and shows no apparent rules.

Key words: Lantang pigs; Landrace pigs; glucose transporter 1; glucose transporter 4; insulin receptor; ontogenetic regulation

*Corresponding author, professor, E-mail: fengdy@scau.edu.cn

(责任编辑 田艳明)